

Spesifisitas antibodi monoklonal anti protein ekskretori-sekretori *Brugia malayi* terhadap protein nematoda lain

Soeyoko

Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada
Yogyakarta

ABSTRACT

Soeyoko - *Binding specificities of monoclonal antibodies against excretory-secretory protein of Brugia malayi to other nematodes protein.*

Background: Previous studies using hybridoma technique had produced monoclonal antibodies against excretory-secretory (ES) protein of *B. malayi* i.e. Fes₁, Fes₃, Fes₇, Fes₁₃ and Fes₁₅. Those monoclonal antibodies will be used to diagnose malayan filariasis in the endemic areas.

Objectives: To reveal binding specificities of those monoclonal antibodies to ES protein of *B. malayi*, heterologous protein i.e. *Ascaris lumbricoides*, *Necator americanus* and homologous protein i.e. *Brugia pahangi*.

Methods: Binding specificities of those monoclonal antibodies to other nematodes protein were assessed by ELISA and inhibition ELISA techniques.

Result: Those monoclonal antibodies showed different binding specificities profiles. Fes₁, Fes₁₃ and Fes₁₅ revealed specific reaction to ES protein of *B. malayi* but they did not react to heterologous and homologous protein. Fes₃ and Fes₇ did not reveal binding specificities to heterologous protein but they had low cross-reactivity to homologous protein. Cross-reactivity values of Fes₃ and Fes₇ were 33,3% and 22% respectively.

Conclusion: Monoclonal antibodies against ES protein of *B. malayi* i.e. Fes₁, Fes₁₃ and Fes₁₅ revealed specific reaction to ES protein of *B. malayi*, but Fes₃ and Fes₇ had low cross-reactivity to protein of *B. pahangi*.

Key words: binding specificity - monoclonal antibody - ES protein - heterolog protein - homolog protein - ELISA.

ABSTRAK

Soeyoko - *Spesifisitas antibodi monoklonal anti protein ekskretori-sekretori Brugia malayi terhadap protein nematoda lainnya*

Latar belakang: Pada penelitian sebelumnya, dengan cara teknik hibridoma telah dihasilkan lima macam antibodi monoklonal anti protein ekskretori-sekretori (ES) *Brugia malayi* (Fes₁, Fes₃, Fes₇, Fes₁₃ dan Fes₁₅). Antibodi monoklonal tersebut akan dimanfaatkan untuk pengembangan diagnosis filariasis malayi di daerah endemik.

Tujuan: Untuk mengetahui spesifisitas kelima macam antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* terhadap protein ES *B. malayi*, protein heterolog (*Ascaris lumbricoides* dan *Necator americanus*) dan protein homolog (*Brugia pahangi*).

Bahan dan Cara: Uji spesifisitas antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* terhadap protein nematoda lainnya dilakukan dengan cara teknik ELISA dan ELISA inhibisi.

Hasil: Antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* (Fes₁, Fes₁₃ dan Fes₁₅) sifatnya spesifik terhadap protein ES *B. malayi* dan tidak bereaksi silang dengan protein heterolog maupun homolog. Antibodi monoklonal Fes₃ dan Fes₇ bereaksi spesifik terhadap protein ES *B. malayi* dan tidak bereaksi silang dengan protein heterolog, namun masih bereaksi silang dengan protein homolog. Besarnya reaksi silang masing-masing antibodi monoklonal tersebut terhadap protein homolog adalah: 33,3% dan 22%.

Simpulan. Antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* (Fes₁, Fes₁₃ dan Fes₁₅) hanya bereaksi spesifik terhadap protein ES *B. malayi*, sedangkan Fes₃ dan Fes₇ masih bereaksi silang dengan protein *B. pahangi*.

PENGANTAR

Akhir-akhir ini sedang dikembangkan suatu cara deteksi antigen (protein ES) yang beredar di dalam serum penderita dengan menggunakan antibodi monoklonal. Metode ini digunakan untuk keperluan diagnosis serologis suatu penyakit agar hasilnya lebih sensitif dan spesifik. Antibodi monoklonal adalah antibodi yang sifatnya homogen, dihasilkan oleh suatu populasi (klon) limfosit B. Pada umumnya antibodi yang ada di dalam serum penderita berasal dari berbagai populasi limfosit B dan disebut antibodi poliklonal yang sifatnya heterogen. Keunggulan antibodi monoklonal bila dibandingkan dengan antibodi poliklonal terletak pada sifatnya yang lebih homogen, lebih spesifik dan dapat diproduksi dalam jumlah yang tak terbatas. Antibodi monoklonal tersebut dapat dihasilkan dengan cara memfusi sel mieloma dengan limfosit dari mencit yang telah diimunisasi dengan antigen tertentu dan terbentuk sel hibrid (hibridoma). Hibridoma tersebut sifatnya imortal, membawa sifat kedua sel induknya dan mensekresi antibodi monoklonal. Teknik fusi sel tersebut dinamakan teknik hibridoma¹. Dengan cara teknik hibridoma dapat dihasilkan bermacam-macam antibodi monoklonal yang karakternya berbeda. Antibodi monoklonal dapat diproduksi dalam jumlah tak terbatas dengan cara *in vitro* maupun *in vivo* dalam cairan asites mencit sehingga dapat dimanfaatkan untuk berbagai tujuan di antaranya: sebagai pelacak untuk mendeteksi antigen/protein dan menetapkan topologi epitop, sebagai reagen diagnostik, dapat dipergunakan untuk pemurnian antigen, sebagai anti parasit untuk keperluan terapi, sebagai reagen untuk menimbulkan antibodi *anti idiotipe* dan dapat dipergunakan untuk mempelajari bidang imunopatologi².

Penelitian dengan menggunakan antibodi monoklonal untuk keperluan pengembangan diagnosis filariasis telah banyak dilakukan. Masing-masing peneliti menggunakan antigen yang berbeda-beda untuk menginduksi limfosit mencit, baru kemudian difusi dengan sel mieloma. Antigen filaria yang sering dipakai adalah antigen somatik dan antigen permukaan, namun, antibodi yang dihasilkan kurang spesifik karena masih bereaksi silang dengan protein nematoda lainnya^{3,4,5,6,7}.

Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM telah berhasil membuat antibodi monoklonal anti protein ekskretori-sekretori (ES) *B. malayi* yang akan dimanfaatkan untuk pengembangan diagnosis filariasis khususnya filariasis malayi⁸. Apakah antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* tersebut benar-benar spesifik terhadap protein ES *B. malayi* atau masih bereaksi silang dengan protein nematoda yang lain seperti *A. lumbricoides* dan *N. americanus*, perlu dilakukan penelitian uji spesifisitas. Berhubung pada penderita di daerah endemik filariasis malayi seringkali terjadi infeksi campuran dengan *A. lumbricoides* dan *N. americanus*, maka tujuan penelitian ini adalah melakukan uji spesifisitas antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* terhadap protein nematoda tersebut untuk mengetahui ada tidaknya reaksi silang. Di samping itu karena *Brugia pahangi* merupakan parasit zoonotik yang mungkin dapat menginfeksi manusia, maka antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* juga perlu diuji spesifisitasnya terhadap protein homolog *B. pahangi*.

BAHAN DAN CARA

Bahan penelitian:

1. Lima macam antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* yang telah tersedia di Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM: Fes₁, Fes₃, Fes₇, Fes₁₃ dan Fes₁₅. Antibodi monoklonal tersebut diperoleh dengan cara memfusi limfosit mencit Balb/C yang telah diimunisasi dengan antigen ekskretori-sekretori *B. malayi* dengan sel mieloma⁸.
2. Protein ES *B. malayi*: diperoleh dengan cara kultivasi *in vitro* cacing dewasa *B. malayi* di dalam media penumbuh tanpa serum⁸.
3. Protein permukaan nematoda intestinal: *A. lumbricoides*, *N. americanus* dan nematoda jaringan: *B. pahangi*. Protein tersebut dikumpulkan dari cacing dewasa yang diekstraksi dengan detergen seperti yang dilakukan oleh Freedman *et al*⁹.
4. Antibodi poliklonal anti protein *B. malayi*, berasal dari serum kelinci yang diimunisasi antigen somatik *B. malayi*⁸.

Cara penelitian. Uji spesifisitas antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* terhadap protein permukaan nematoda intestinal dan nematoda jaringan dilakukan dengan cara ELISA atau ELISA inhibisi.

Cara ELISA dengan singkat dapat diuraikan sebagai berikut. Protein ES *B. malayi*, protein permukaan nematoda intestinal dan nematoda jaringan masing-masing 1g dalam 100l larutan coating buffer (0,05 M natrium carbonat pH 9,6) diabsorbikan pada dasar sumuran lempeng mikro ELISA. Lempeng tersebut diinkubasikan pada suhu 4°C semalam, kemudian dicuci dengan larutan pencuci phosphate buffer saline-tween (PBS-T). Ke dalam tiap sumuran ditambahkan 200l bovine serum albumin (BSA) 1% yang berperan sebagai blocking solution dan diinkubasikan pada 37°C selama satu jam, kemudian dicuci. Antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* dilarutkan di dalam PBS-T dengan pengenceran 1:1000, kemudian ditambahkan ke dalam sumuran, setiap sumuran 100l, dan diinkubasikan pada 37°C selama satu jam. Setelah lempeng mikro ELISA dicuci, kemudian ditambahkan alkaline phosphatase labelled anti mouse IgG conjugated yang dilarutkan di dalam PBS-T dengan perbandingan 1:1000, setiap sumuran diisi 100l, diinkubasikan pada 37°C selama satu jam. Lempeng mikro ELISA dicuci lagi, baru kemudian ditambahkan 150l substrat (1mg 4-nitrophenyl disodium orthophosphate dalam 1ml diethanolamine hidroklorida pH 9,8) pada setiap sumuran. Jika antibodi monoklonal anti protein ES tersebut tidak spesifik maka pada semua sumuran timbul warna (Optical Density/OD), tetapi jika spesifik maka hanya pada sumuran yang dilapisi protein ES yang akan timbul warna. Reaksi dihentikan dengan pemberian 3N NaOH. Nilai OD dibaca dengan ELISA reader.

ELISA inhibisi, pada prinsipnya dilakukan sebagai berikut. Protein permukaan nematoda intestinal maupun nematoda jaringan (sebagai inhibitor) dengan berbagai macam konsentrasi masing-masing diinkubasikan dengan antibodi monoklonal anti protein ES di dalam nunc vial selama satu malam pada suhu 4°C. Kemudian diinkubasikan pada lempeng mikro ELISA yang telah dilapisi dengan protein ES. Jika antibodi monoklonal tersebut spesifik (tidak ada reaksi silang) maka setelah penambahan konjugat dan

substrat akan timbul warna (OD) yang tidak berubah walaupun antibodi monoklonal anti protein ES diinkubasikan dengan berbagai macam konsentrasi protein permukaan nematoda intestinal, tetapi jika tidak spesifik (ada reaksi silang) maka akan terjadi perubahan warna (OD) tergantung dari konsentrasi inhibitor.

ELISA inhibisi juga dapat dipergunakan untuk mengetahui persentase derajat reaksi silang (RS) antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* terhadap protein nematoda lain, dengan cara sebagai berikut. Antibodi monoklonal anti protein ES yang akan diuji diencerkan, sehingga apabila diinkubasikan dengan protein ES, OD yang dihasilkan mendekati satu. Antibodi monoklonal anti protein ES dengan pengenceran seperti tersebut di atas, diinkubasikan dengan protein nematoda lain dengan berbagai macam konsentrasi dengan perbandingan 1:1 (v/v) selama satu malam baru kemudian diinkubasikan pada lempeng mikro ELISA yang telah dilapisi dengan protein ES *B. malayi*. Setelah ditambahkan konjugat dan substrat, dibaca dengan ELISA reader. Persentase inhibisi dihitung dengan rumus:

$$I = \frac{OD A - OD B}{OD A} \times 100\% \quad (1)$$

OD A : OD tanpa inhibitor (campuran antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* dengan PBS)

OD B : OD dengan inhibitor (campuran antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* dengan protein/antigen)

Kemudian dicari konsentrasi inhibitor (IC/inhibitor concentration) yang menyebabkan inhibisi 50% (IC₅₀) dengan metode analisis regresi probit. Derajat reaksi silang (RS) dihitung dengan rumus¹⁰:

$$RS = \frac{IC_{50} \text{ inhibitor (protein lain)}}{IC_{50} \text{ inhibitor (protein ES B. malayi)}} \times 100\% \quad (2)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* telah diuji spesifisitasnya terhadap berbagai macam protein heterolog dan homolog. Sebagai contoh protein heterolog dipergunakan protein permukaan nematoda intestinal yaitu *A. lumbricoides* dan *N. americanus*, karena

stadium larva kedua spesies nematoda tersebut berganti kulit pada saat berada di dalam darah dan sering terjadi infeksi campuran bersama-sama dengan cacing filaria. Sebagai protein homolog dipergunakan protein permukaan filaria limfatik hewan *B. pahangi*, karena termasuk satu genus dengan *B. malayi* yaitu genus *Brugia*. Hasil penelitian disajikan pada TABEL 1, GAMBAR 1, 2 dan 3.

TABEL 1. - Uji spesifisitas antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* terhadap bermacam-macam protein permukaan nematoda dengan cara ELISA

Antibodi monoklonal	Optical Density pada panjang gelombang 492			
	<i>B. malayi</i>	<i>B. pahangi</i>	<i>A. lumbricoides</i>	<i>N. americanus</i>
Fes ₁	1,568	0,354	0,296	0,278
Fes ₃	1,491	0,449	0,287	0,285
Fes ₇	1,345	0,463	0,299	0,275
Fes ₁₃	1,754	0,325	0,265	0,280
Fes ₁₅	1,565	0,345	0,305	0,295

OD kontrol negatif: 0,355 ± 0,095

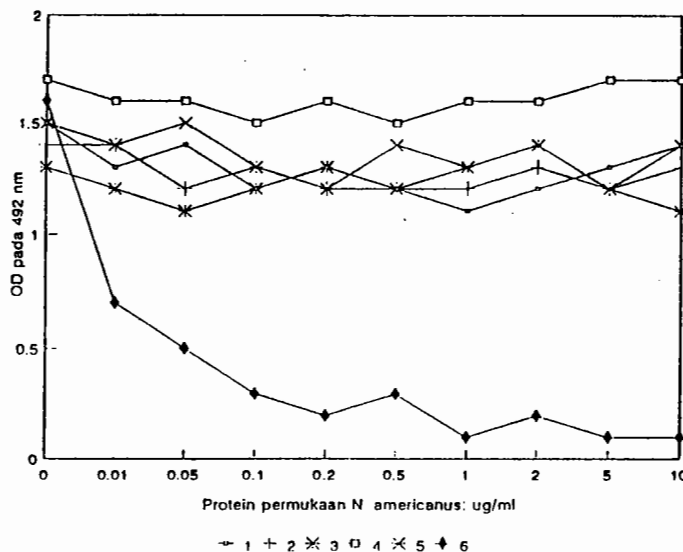
Fes: antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi*

B. malayi: protein ES

B. pahangi, *A. lumbricoides*, *N. americanus*: protein permukaan

Dengan cara ELISA (TABEL 1) dapat diketahui bahwa kelima macam antibodi monoklonal (Fes₁, Fes₃, Fes₇, Fes₁₃ dan Fes₁₅) sifatnya spesifik terhadap protein ES *B. malayi*, sebab setelah direaksikan dengan protein ES *B. malayi* masing-masing bereaksi positif dan menunjukkan OD yang jauh lebih tinggi daripada OD

kontrol negatif yaitu antara 1,345-1,754 (4-5 kali kontrol negatif). Namun, kelima macam antibodi monoklonal tersebut dengan protein permukaan nematoda lainnya (*B. pahangi*, *A. lumbricoides* dan *N. americanus*) bereaksi negatif, menunjukkan OD lebih rendah daripada rerata kontrol negatif, kecuali Fes₃ dan Fes₇. Antibodi monoklonal Fes₃ dan Fes₇ selain bereaksi positif terhadap protein ES juga masih bereaksi positif lemah dengan protein permukaan *B. pahangi*. Pada penelitian ini antibodi monoklonal Fes₃ dan Fes₇ masing-masing dapat mengikat protein ES dan menunjukkan OD: 1,491 dan 1,345, sedangkan dengan protein permukaan *B. pahangi* menunjukkan OD: 0,449 dan 0,463. Angka ini ternyata lebih tinggi daripada rerata OD kontrol negatif 0,355 ± 0,095. Hal ini dapat disebabkan antibodi monoklonal Fes₃ dan Fes₇ mengenal epitop yang terdapat pada polipeptida dengan berat molekul yang sama atau hampir sama pada protein ES *B. malayi* maupun protein permukaan *B. pahangi*, karena kedua protein tersebut dapat berasal dari kutikula cacing yang berdasarkan taksonominya termasuk satu genus *Brugia*. Hanya perbedaannya *B. malayi* lebih suka hidup dan berkembang di dalam tubuh manusia daripada di dalam kucing, sedangkan *B. pahangi* sebaliknya yaitu lebih suka hidup dan berkembang di dalam kucing daripada di dalam tubuh manusia. Dengan demikian kedua antibodi monoklonal tersebut tidak dapat dipergunakan untuk keperluan diagnosis filariasis



GAMBAR 1. - Uji spesifisitas antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* terhadap protein permukaan *N. americanus* dengan cara ELISA inhibisi
 1. Fes₁ ; 2. Fes₃ ; 3. Fes₇ ; 4. Fes₁₃ ; 5. Fes₁₅; 6. Antibodi poliklonal anti-*B. malayi*

malayi, karena masih bereaksi silang dengan *B. pahangi* yang mempunyai sifat zoonotik.

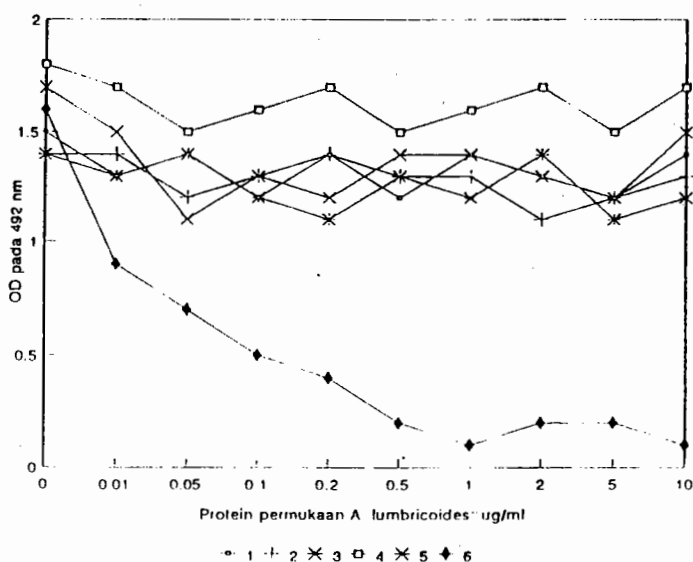
Dengan cara ELISA inhibisi dapat dibuktikan bahwa kelima macam antibodi monoklonal tersebut tidak bereaksi silang dengan protein permukaan nematoda intestinal *N. americanus* (GAMBAR 1) dan *A. lumbricoides* (GAMBAR 2).

Antibodi monoklonal anti protein ES tersebut sebelum direaksikan dengan protein ES *B. malayi*, telah diinkubasikan lebih dahulu dengan protein permukaan *N. americanus* yang berperan sebagai inhibitor. Ternyata antibodi monoklonal tersebut tidak bereaksi dengan protein permukaan *N. americanus*, sehingga tidak ada hambatan pada waktu diinkubasikan dengan protein ES *B. malayi*. Pada GAMBAR 1, terlihat kelima macam antibodi monoklonal menunjukkan OD yang tidak berubah walaupun direaksikan dengan bermacam-macam konsentrasi inhibitor. Berbeda dengan antibodi poliklonal, anti *B. malayi* ternyata dapat bereaksi silang dengan protein permukaan *N. americanus*. Pada gambar terlihat makin tinggi konsentrasi inhibitor makin tinggi hambatan, sehingga makin sedikit antibodi poliklonal yang bereaksi dengan protein ES. Hal ini dapat diperlihatkan adanya perubahan OD yang makin menurun.

Pada GAMBAR 2, kelima macam antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* tidak bereaksi silang dengan protein permukaan *A. lumbricoides*, sehingga dapat bereaksi dengan

protein ES tanpa hambatan. Berbeda dengan antibodi poliklonal anti *B. malayi* yang sifatnya tidak spesifik, reaksinya terhadap protein ES mulai dihambat oleh protein permukaan *A. lumbricoides* walaupun konsentrasinya hanya 0,01 µg/ml. Pada gambar terlihat pada konsentrasi inhibitor tersebut di atas OD terlihat <1, makin lama makin menurun sesuai dengan kenaikan konsentrasi inhibitor dan nilai OD mencapai terendah pada konsentrasi inhibitor 1 µg/ml.

Reaksi silang antara antibodi monoklonal Fes3 dan Fes7 dengan protein permukaan *B. pahangi*, pada penelitian ini disajikan pada GAMBAR 3. Dengan cara ELISA inhibisi dapat dijelaskan bahwa dari kelima macam antibodi monoklonal anti protein ES tersebut hanya tiga macam (Fes1, Fes13 dan Fes15) yang benar-benar spesifik terhadap protein ES, sedangkan dua macam antibodi monoklonal anti protein ES lainnya (Fes3 dan Fes7) masih bereaksi silang dengan protein permukaan *B. pahangi* (pada GAMBAR 3 terlihat penurunan OD). IC₅₀ antigen *B. pahangi* terhadap antibodi monoklonal Fes3 dihitung dengan analisis probit, yaitu 0,3 µg/ml, sedangkan IC₅₀ protein ES yaitu 0,9 g/ml (TABEL 2). IC₅₀ antigen *B. pahangi* terhadap antibodi monoklonal Fes7 adalah 0,2 µg/ml, sedangkan IC₅₀ protein ES adalah 1 µg/ml (TABEL 3). Besarnya angka reaksi silang (RS) kedua antibodi monoklonal tersebut setelah dihitung dengan rumus seperti yang dilakukan Cot *et al.*¹⁰ ternyata dengan Fes3



GAMBAR 2. - Uji spesifisitas antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* terhadap protein permukaan *A. lumbricoides* dengan cara ELISA inhibisi

1. Fes1 ; 3. Fes7 ; 5. Fes15 ; 2. Fes3 ; 4. Fes13; 6. Antibodi poliklonal anti *B. malayi*

adalah sebesar 33,3%, sedangkan dengan Fes₇ sebesar 22%. Artinya apabila antibodi monoklonal Fes₃ dipergunakan untuk mendeteksi antigen (protein permukaan) pada serum penderita dengan infeksi campuran *B. malayi* dan *B. pahangi*, maka antibodi monoklonal tersebut mampu mendeteksi protein *B. pahangi* yang kadarnya hanya 33,3 µg/ml, tetapi telah memberikan OD yang sama bila antibodi monoklonal tersebut mengikat protein ES *B. malayi* bila kadarnya 100 µg/ml.

TABEL 2. - Konsentrasi inhibitor yang menghambat reaksi antibodi monoklonal Fes₃

% inhibisi	Macam inhibitor	
	protein <i>B. pahangi</i> : µg/ml	protein ES <i>B. malayi</i> : µg/ml
10	0,02	0,07
20	0,05	0,1
30	0,1	0,3
40	0,2	0,5
50	0,3	0,9
60	0,6	1
70	1	2
80	2	4
90	3	11

RS Fes₃ terhadap protein *B. pahangi*: $\frac{0,3}{0,9} \times 100\% = 33,3\%$

Spesifisitas antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* pada penelitian ini, masih lebih baik

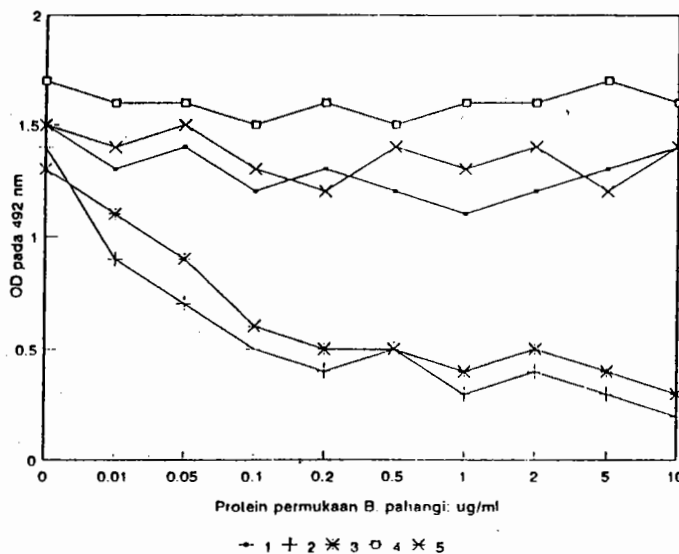
jika dibandingkan dengan hasil penelitian Parab *et al.*⁵, karena antibodi monoklonal anti protein ES tersebut tidak bereaksi silang dengan protein permukaan heterolog dan hanya dua macam antibodi monoklonal anti protein ES yang bereaksi lemah dengan protein permukaan homolog, sedangkan tiga macam lainnya bereaksi spesifik dengan protein ES *B. malayi*. Parab *et al.*⁵ melaporkan bahwa dua macam antibodi monoklonal

TABEL 3. - Konsentrasi inhibitor yang menghambat reaksi antibodi monoklonal Fes₇

% inhibisi	Macam dan konsentrasi inhibitor	
	protein <i>B. pahangi</i> : µg/ml	protein <i>B. malayi</i> : µg/ml
10	0,001	0,03
20	0,008	0,1
30	0,02	0,2
40	0,08	0,5
50	0,22	1
60	0,5	2
70	1	4
80	5	11
90	32	38

RS Fes₇ terhadap protein *B. pahangi*: $\frac{0,22}{0,1} \times 100\% = 22\%$

terhadap protein somatik stadium larva *B. malayi* yang dihasilkan, ternyata satu macam bereaksi lemah dengan protein homolog *Litomoides carinii* sedangkan lainnya masih bereaksi silang dengan



GAMBAR 3. - Uji spesifisitas antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* terhadap protein permukaan *B. pahangi* dengan cara ELISA inhibisi
1: Fes₁; 3: Fes₇; 5: Fes₁₅; 2: Fes₃; 4: Fes₁₃

protein *L. carinii*, *B. pahangi*, *Dipetaniolema vitae* dan protein heterolog *A. lumbricoides*, *N. americanus*, *Strongyloides ratti* dan *Trichiuris muris*. Reaksi silang ini disebabkan oleh antigen somatik yang banyak mengandung *phosphorylcholine* yang merupakan *common epitope* yaitu *antigenic determinant* dengan berat molekul tinggi (200.000 dalton) dan biasanya terdapat pada sistem pencernaan maupun sistem reproduksi filaria.

SIMPULAN

1. Antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* (Fes₁, Fes₃, Fes₇, Fes₁₃ dan Fes₁₅) tidak bereaksi silang dengan protein permukaan heterolog: *A. lumbricoides* dan *N. americanus*.
2. Antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* (Fes₃ dan Fes₇) bereaksi silang dengan protein homolog *B. pahangi*.
3. Antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* (Fes₁, Fes₁₃ dan Fes₁₅) bereaksi spesifik dengan protein *B. malayi*.
4. Antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* yang dapat dimanfaatkan untuk pengembangan diagnosis filariasis malayi adalah: Fes₁, Fes₁₃ dan Fes₁₅.

SARAN

Antibodi monoklonal anti protein ES *B. malayi* (Fes₁, Fes₃, Fes₇, Fes₁₃ dan Fes₁₅) masih perlu diuji spesifisitasnya terhadap protein ES *W. bancrofti* dan *B. timori* mengingat bahwa kedua filaria limfatik tersebut juga dapat ditemukan di Indonesia.

KEPUSTAKAAN

1. Kohler G, Milstein C. Continuous culture of fused cell secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975, 256: 459-97.
2. Mak JW. Monoclonal antibodies and their applications. International Seminar on Biotechnological Techniques in Tropical Medicine. Institute for Medical Research Japan International Cooperation Agency. Kuala Lumpur: 24 October-18 November 1995, p: 45-51.
3. Canlas M, Wade A, Lamontagne L. and Piessens WF. A monoclonal antibody to surface antigens on microfilariae of *Brugia malayi* reduces microfilaremia in infected jird. Am J Trop Med Hyg. 1984, 33: 420.
4. Aggarwal A, Cuna W, Haque DC. and Capron A. Resistance against *Brugia malayi* microfilariae induced by monoclonal antibody which promotes killing by macrophages and recognizes surface antigens. Immunology. 1985, 54: 655.
5. Parab PB, Rajasekariah GR, Chandrasekar R, Alkan SS, Braun DG. and Subrahmanyam D. Characterization of monoclonal antibody against infective larvae of *Brugia malayi*. Immunology. 1988, 64: 169-174.
6. Oikawa Y, Ikeda T, Horii Y, Fujita K. and Tsukidate S. *Brugia pahangi*: Production of monoclonal antibody reactive with the surface of infective larvae. Exp. Parasitol. 1992, 75: 146-54.
7. Conraths FJ, Harnett HW, Worms MJ, Parkhouse RME. Immunological cross reaction between an *Onchocerca* paramyosin-like molecule and microfilaria surface antigen. Trop Med Parasitol. 1992, 43: 135-8.
8. Soeyoko. Pengembangan antibodi monoklonal spesifik terhadap antigen beredar *Brugia malayi* untuk diagnosis filariasis malayi [Dissertation]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada, 1998.
9. Freedman NO, Nutman TB, Ottesen EA. Enhanced solubilization of immunoreactive proteins from *Brugia malayi* adult parasites using cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB). Exp Parasitol. 1988, 65: 244-50.
10. Cot MC, Salhi SL, Piechaczyk M, Pau B, Bastide JM. Production and characterization of highly specific anti methotrexate monoclonal antibodies. Hybridoma 1987, 6: 87-95.
11. Guazalta M, Weiss N and Heusser H. *Dipetaniolema vitae*: phosphorylcholine and non-phosphorylcholine antigenic determinants in infective larvae and adult worms. Exp Parasitol. 1986, 61:95-109.